CAPÍTULO XXVI

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ABSORCIÓN DE POLÍMEROS HIDROGELES SINTETIZADOS DESDE BIOPOLIÉSTERES. IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CON POTENCIAL PARA SU DEGRADACIÓN

Kirsty González

Lcdo. Química. Universidad de Oriente. Estudiante Postgrado Maestría en Química. Cumaná, Venezuela. Orcid: <https://0000-0002-6522-4246>. Correo electrónico: kirstydelvgonzalezv@gmail.com

Blanca Rojas de Gascue

Dra. en Química, Ing. de Materiales. Universidad de Oriente, Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas (IIBCAUDO), Cumaná, Venezuela. Orcid: <https://0000-0002-6053-7665>. Correo electrónico: blanca_gascue@yahoo.com

Pedro López Guaimacuto

MSc. Biología Aplicada. Universidad de Oriente, Centro Regional de Investigaciones Ambientales (CRIAUDO), Nueva Esparta, Venezuela. Orcid: <https://0000-0001-6620-4549>. Correo electrónico: pedro.lopez@ne.udo.edu.ve

Resumen

Se sintetizaron polímeros hidrogeles interpenetrando poliacrilamida (PAAm) con polímeros naturales de tipo polihidroxialcanoatos (PHAs), los biopolíesteres: poli(3-hidroxiбутирато) (PHB) y poli (3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxiуалерато) (PHBV). El objetivo de esta investigación fue evaluar los hidrogeles mediante su capacidad de absorción, e inocularlos con un afluente de agua residual para identificar las bacterias capaces de degradarlos. Los resultados mostraron que el porcentaje de hidratación en los hidrogeles semi-interpenetrados (semi-IPN) de PAAm/PHB y de PAAm/PHBV tuvieron un aumento considerable en comparación con el hidrogel sintético de poliacrilamida, elevándose desde 824% para la poliacrilamida, hasta 2338% para el PAAm/PHB, y 2320% para el de PAAm/PHBV, siguiendo una cinética de absorción de segundo orden. Sus constantes cinéticas (contenido de agua en el equilibrio (m_{∞}) y constante de rapidez de absorción (k)) resultaron similares para las mezclas con los biopolíesteres pero significativamente diferentes a los valores del hidrogel sintético de PAAm. Finalmente, se confirmó la presencia de bacterias degradadoras en los medios de cultivos de los hidrogeles semi-IPN las cuales se identificaron como *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas fluorescens*.

www.doi.org/10.47212/tendencias2020vol.xii.27

Palabras claves: absorción, bacterias degradadoras, bioplásticos, hidrogeles, poliésteres biodegradables

BIODEGRADATION STUDY IN SYNTHESIZED HYDROGEL POLYMERS FROM BIOPOLIESTERS WHEN INOCULATED WITH RESIDUAL WATER FLOW

Abstract

Hydrogel polymers were synthesized by interpenetrating polyacrylamide (PAAm) with natural polymers of the PHAs polyhydroxyalkanoate, the biopolyesters: (poly3-hydroxybutyrate (PHB) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV). The objective of this research was to evaluate hydrogels by their absorption capacity, and inoculate them with a wastewater effluent to identify bacteria capable of degrading them. The results showed that the percentage of hydration in the semi-interpenetrated hydrogels of PAAm/PHB and PAAm/PHBV had a considerable increase compared to synthetic polyacrylamide hydrogel, rising from 824% for polyacrylamide, to 2338% for PAAm/PHB, and 2320% for PAAm/PHBV, following a second order absorption kinetics. Their kinetic constants (water content at equilibrium (m_{∞}) and absorption rate constant (k)) were similar for blends with biopolyesters but significantly different from the values of the synthetic hydrogel of PAAm. Finally, the presence of degrading bacteria was confirmed in the culture media of the semi-IPN hydrogels, which were identified as *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas fluorescens*.

Keywords: absorption, biodegradable polyesters, bioplastics, degrading bacteria, hydrogels.

Proyecto de investigación

Proyecto de apoyo a la Salud IIBCAUDO (Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas de la Universidad de Oriente) y el Servicio de Traumatología del HUAPA (Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá) en Cumaná, Venezuela.

Introducción

La biodegradabilidad es una variable determinante en el comportamiento ambiental de las sustancias químicas y una propiedad deseable de los productos desechables. Durante los últimos años, uno de los campos de aplicación en las investigaciones en

materiales desechables se ha orientado al desarrollo de polímeros de tipo hidrogeles como potenciales remediadores de sistemas contaminados (Zerpa et al., 2017), debido a que las diferentes fuentes de contaminación, como los fluidos hospitalarios o el vertido de aguas residuales industriales, entre otros, son considerados los principales agentes acuosos de contaminación ambiental.

Ante esta problemática, en este trabajo se sintetizaron hidrogeles a partir de biopolíesteres de polihidroxialcanoatos (PHAs) (Guzmán et al., 2017) y se caracterizaron comparándolos con uno de los hidrogeles sintéticos más comunes, el hidrogel de poliacrilamida (PAAm).

Conocer la capacidad de absorber y retener líquidos es uno de los aspectos más importantes de este tipo de polímeros (Benítez et al., 2018) debido a que su síntesis y caracterización extiende el campo de aplicación de los nuevos materiales en áreas de fármacos, agronomía, apósitos entre otros (Alcívar, 2020), donde se requiere absorber y liberar sustancias como antibióticos, fertilizantes y pesticidas entre otros.

Es importante también conocer cuales microorganismos son capaces de degradar el material, para que los hidrogeles puedan ser sometidos, posteriormente a su aplicación, a un medio que favorezca su biodegradación.

Este trabajo tiene como propósito llevar a cabo la síntesis de hidrogeles a partir de poliacrilamida e interpenetrados con los biopolíesteres PHB y PHBV con el objetivo de evaluar la capacidad de absorción y de aislar e identificar cepas bacterianas con potencial para su degradación.

Fundamentos teóricos

Las principales vías de degradación de los polímeros son: enzimática, hidrolítica y oxidativa. Las dos primeras suelen estar presentes en el proceso de biodegradación. Así por ejemplo, la celulosa y el almidón son degradados por grupos específicos de enzimas conocidas como celulasas y amilasas, respectivamente (Cruz et al., 2019). Por otra parte, el contacto continuo con moléculas de agua favorece la degradación hidrolítica, entonces es bien sabido que el enlace éter es mucho más resistente a la hidrólisis que uno

de éster, y que la hidrólisis del grupo amida da lugar a una amina y un ácido carboxílico, lo que es extensivo a las macromoléculas (Catalán et al, 2017).

Los polímeros biodegradables son obtenidos usualmente por vía fermentativa y se les denomina también biopolímeros (Alcívar, 2020). Como ejemplos, el poli (ácido láctico) PLA (Medina et al., 2018), y los biopoliésteres, como el poli (3-hidroxibutirato) PHB o copolímeros del tipo poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) P(HBV) (González et al., 2018), utilizados en este trabajo.

El PHB ha sido uno de los biopoliésteres más investigados, es producido por muchas bacterias como medio para almacenar carbono y energía (Lenz y Marchessault, 2005). Este polímero puede biodegradarse en entornos tanto aerobios como anaerobios, sin formar productos tóxicos (Rojas et al., 2018). La mayoría de las cepas que son capaces de degradar PHB pertenecen a diferentes grupos taxonómicos tales como bacterias grampositivas y gramnegativas, *Streptomyces* y hongos (Lemos et al., 2015). El PHB, al igual que su copolímero PHBV, son polímeros biodegradables y biocompatibles, sin embargo, su aplicación se ha limitado debido a su alto costo de producción y a sus propiedades mecánicas (Lenz y Marchessault, 2005).

Se han investigado diferentes sistemas y reacciones químicas con el PHB, que permitieran proponer mejoras en sus potenciales aplicaciones. En mezclas con polipropileno funcionalizado, habiendo hidrolizado previamente el PHB se detectaron nuevas interacciones (Rojas et al., 2011). En este trabajo se reporta también el estudio de la degradabilidad del PHB en sedimentos tomados de la Laguna La Restinga (Nueva Esparta, Venezuela).

Muchos son los trabajos realizados a partir de estos polímeros, González et al. (2018), por ejemplo, evaluaron las propiedades de absorción de hidrogeles semi-IPN obtenidos a partir de acrilamida (AAM) y el biopoliéster PHBV, utilizando 2,2-azobis(2-metilpropionitrilo) (AIBN) como iniciador en una mezcla dimetilsulfóxido (DMSO)/agua. Vale recordar que los hidrogeles se forman por entrecruzamiento, ya sea físico o químico, con sus redes interpenetradas tridimensionales capaces de retener grandes cantidades de agua y al mismo tiempo mantener su forma. Las características de los

monómeros que lo forman y el grado de entrecruzamiento determinan las propiedades de hinchamiento del hidrogel seco (xerogel) y, por tanto, su campo de aplicación (Ramírez et al., 2016).

Los resultados reportados por González et al. (2018) indicaron la incorporación efectiva del PHBV dentro de la red entrecruzada de la PAAm, determinando los mecanismos de transporte de agua. Los valores obtenidos mostraron que el proceso de difusión es menos Fickiano, lo que significa que la rapidez de penetración del agua era mucho menor que la velocidad de relajación de las cadenas de polímero.

En otros sistemas Benítez et al. (2018) prepararon un hidrogel basado en AAm. El artículo de Benítez señala que prepararon un hidrogel basado en AAm/anhidrido maleico (AHM) en las mismas condiciones que hidrogeles basados en AAm/ácido fumárico (AF)/ácido maleico (AM), con diferentes proporciones AF/AM. Mediante espectroscopia de FTIR establecieron que las unidades de AHM incorporadas a las cadenas poliméricas se hidrolizaron completamente durante la preparación del hidrogel.

Metodología

Materiales

Para sintetizar los hidrogeles se empleó acrilamida (Promega, M:71,08 g/mol), NN'-metilenbisacrilamida (NNMBA) (Riedel-De Haën, M:154,17 g/mol al 98%) y persulfato de amonio (Riedel-De Haën, M:228,20 g/mol al 98%). El poli (3-hidroxibutirato) y el poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) fueron suministrados por Copersucar (Brasil).

Síntesis de los hidrogeles

Los hidrogeles se sintetizaron de acuerdo a las proporciones encontradas en la tabla 1. En el hidrogel de PAAm se disolvió la acrilamida en agua desionizada, luego se agregó el agente entrecruzante (NNMBA) se agitó y se dejó reposar por 20 min. Se disolvió el iniciador y se agregó a la mezcla AAm y entrecruzante. Posteriormente, se colocó el tubo de ensayo en un baño de aceite a 60°C durante 1 hora. Al iniciar el calentamiento se purgó la mezcla con nitrógeno, luego se selló el tubo hasta que se completara el tiempo de reacción (Ramírez et al., 2016).

Tabla 1

Cantidad (g) de los reactivos utilizados para la síntesis de hidrogeles

	PAAm	PAAm/ PHB	PAAm/ PHBV
PHB	-	0,20	-
PHBV	-	-	0,20
Acrlamida	2,01	1,80	1,80
Entrecruzante	0,02	0,02	0,02
Iniciador	0,01	0,01	0,01

Para sintetizar los hidrogeles semi-IPN PAAm/PHB y PAAm/ PHBV, se realizó de forma análoga al procedimiento anterior, sin embargo el PHB y el PHBV se disolvieron previamente con ácido acético glacial en un baño de aceite a 100°C. Una vez disueltos se añadieron a la mezcla AAm y NNMBA, y se agitaron constantemente hasta obtener una mezcla homogénea a la cual se les agregó el iniciador disuelto previamente en agua desionizada. De igual forma, que en la síntesis anterior se purgó la mezcla con nitrógeno por 5 min y se dejó reaccionar por 1 hora a 60°C.

Una vez obtenidos los hidrogeles se extrajeron del tubo de ensayo y se cortaron con un hilo de Nylon en forma de discos, se lavaron con agua desionizada durante 7 días y se dejaron secar a temperatura ambiente hasta alcanzar su estado seco de Xerogel.

Capacidad de absorción (grado de hinchamiento)

La capacidad de absorción de agua de los hidrogeles es una de sus características más importantes, ya que a partir de ella se puede determinar su aplicabilidad, puesto que controla gran número de sus propiedades como son la permeabilidad, las propiedades mecánicas y superficiales, y se caracteriza mediante el porcentaje de hidratación o índice de hinchamiento (H%) (Ramírez et al., 2016).

Esta capacidad se determinó gravimétricamente, sumergiendo el xerogel ($0,1 \pm 0,001$ g) en agua desionizada a temperatura ambiente. Al cabo de 5 min se extrajo el gel, se secó con papel de filtro, se pesó y se colocó nuevamente en agua desionizada. Este procedimiento se repitió a diferentes tiempos hasta que el hidrogel alcanzó el equilibrio fisicoquímico. Tomando en cuenta la masa se construyeron las isotermas de absorción para los diferentes hidrogeles utilizando la siguiente ecuación:

$$H(\%) = \frac{m - m_o}{m_o} \times 100 \quad (1)$$

Dónde: (H%): porcentaje de hidratación, m: es la masa del hidrogel a un tiempo t, y m_o : es la masa del hidrogel seco (xerogel). Para determinar la cinética de hinchamiento se utilizó la ecuación de Schott (1992), la cual es útil para experimentos cuya data de absorción se refieren a largos periodos de tiempo o altos grados de hinchamiento. Las medidas se realizaron por triplicado.

Estudio de biodegradación e identificación de microorganismos

Para el estudio de biodegradación se utilizó un medio de sales minerales, el cual se optimizó a partir del medio reportado por Shah et al., (2008), después de pruebas realizadas considerando la revisión reportada por López (2012). El medio se preparó a partir de: KH_2PO_4 (0,7g), K_2HPO_4 (0,7g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,7g), NH_4Cl (1,0g), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,003g), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,003g), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,671g) y $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,160g), disueltos en 1L de agua destilada. El medio fue esterilizado a través de filtración por membrana. Se tomaron 100 mL de esta solución y se colocaron en un recipiente donde posteriormente se colocó cada hidrogel, luego se introdujo un filtro de membrana de acetato de celulosa (0,45 μm de diámetro de los poros) por el cual previamente se hizo pasar 1 mL de un agua residual proveniente del afluente de un Hotel local. Se incubaron los hidrogeles por 2 semanas a 30°C, este procedimiento se realizó por duplicado. Para el control se utilizó el mismo procedimiento con la diferencia que no se introdujo ninguna membrana con la retención microbiana en el medio mineral con el hidrogel.

Para la identificación de microorganismos con potencial para la degradación de biopolímeros, se sembró por estriado de los cultivos (experimental y control) de los hidrogeles en placas de agar Cromocult (Merck) y *Pseudomonas* (Hi-Media) que se incubaron a 30 °C durante 48 h. Posteriormente se re-aislaron las bacterias en caldo Fluorocult y luego se observaron bajo la luz ultravioleta.

Resultados y discusión

Capacidad de absorción (grado de hinchamiento)

El grado de hidratación del hidrogel de poliacrilamida fue de 824% en un tiempo de 8640 min manteniéndose constante. Por otra parte, los hidrogeles Poli (AAm)/PHB y Poli(AAm)/PHBV tuvieron grados de hinchamiento similares correspondientes a los

valores en masa alcanzados de 2,132 g y 2,063 g respectivamente. Estas diferencias en la masa son significativas, ya que se indicó anteriormente que las medidas se realizaron por triplicado, a partir de lo cual se determinó la desviación estándar en cada caso que resultó entre 0,0006 g y 0,0052 g. Sus capacidades máximas de absorción la alcanzaron los hidrogeles después de 54720 min (38 días), los cuales fueron de 2338 % para una masa de 2,536 g de Poli (AAm)/PHB y de 2320 % para una masa de 2,396 g del Poli (AAm)/ PHBV. Los hidrogeles hinchados se pueden observar en la figura 1a, y sus respectivas masas medidas a los 38 días se ilustran en la figura 1b.

Figura 1

(a) Hidrogeles hidratados de poliacrilamida (PAAm) y de los semi-interpenetrados con polímeros naturales: poli (3-hidroxibutirato) PHB y poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) PHBV. (b) Masas medidas después de 38 días, incremento registrado a partir de una masa inicial de 0,1 g.

En la figura 2, se muestran las isotermas de hinchamiento de los hidrogeles, obtenidas a partir de la ecuación 1. En ellas se puede notar la mayor capacidad de absorción que tienen los hidrogeles semi-IPN con los poliésteres, en comparación con el de poli(acrilamida), se postula que es debido al incremento de volumen libre y grupos ésteres que aportan las moléculas de los PHAs durante la síntesis de la red interpenetrada, favoreciendo la formación de puentes de hidrógeno con el agua. Estos resultados coinciden con trabajos previos reportados en hidrogeles sintetizados con sistemas análogos (Villarroel et al., 2010), y en sistemas similares pero con otros biomateriales como el Quitosano (Q), formando redes semi-interpenetradas Poli (AAm)/ Q (Rojas et al., 2012).

No obstante, la tendencia en los grados de hinchamiento difieren de trabajos previos reportados en sistemas similares de Poli (AAm)/ PHBV por González et al. (2013), estas diferencias podrían tener su origen en el tipo de solvente empleado por estos investigadores, quienes utilizaron dimetilsulfóxido (DMSO), indicando en sus resultados que el DMSO tuvo un efecto plastificante en los geles, transformándolos en películas, de baja capacidad de absorción.

En la ampliación (figura 2c) se observó como en las primeras 3h el hidrogel de poli(acrilamida) inicialmente tenía un porcentaje de hidratación mayor que los hidrogeles con PHAs, sin embargo, en el lapso de tiempo de 180-1440 minutos (3h a 24h) comenzó a disminuir, como se observa en la figura 2b.

Figura 2

Isotermas de absorción o hinchamiento de los hidrogeles de poli(acrilamida) (PAAm) y de los semi-IPN con polímeros naturales: poli (3-hidroxibutirato) (PHB) y poli (3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato), (PHBV). (a) Hasta 55.000 min (38 días). (b) Hasta 1440 min (las primeras 24 h) (c) Hasta 180 min (Las primeras 3h).

En cuanto al estudio cinético de absorción de los hidrogeles determinado por la ecuación de Schott, el mismo confirmó que los hidrogeles semi-IPN poli (AAm)/PHB y poli (AAm)/ PHBV, arrojaron un mayor contenido de agua en el equilibrio (m_{∞}). No obstante, resultaron con una disminución significativa en la constante de rapidez de absorción (k) comparados con el hidrogel de poliacrilamida. Resultados previos, han reportado que una mayor cantidad de enlaces de hidrógeno en el estado xerogel, retardan la difusión de los líquidos (Benítez et al., 2015).

Estudio de biodegradación e identificación de microorganismos

Luego de 2 semanas de incubación se observó que en los hidrogeles semi-IPN sumergidos en medio mineral e inoculados con microorganismos de afluentes de aguas residuales retenidos en membranas de nitrocelulosa (cultivos experimentales) y los controles (hidrogeles no inoculados) presentaron cierta turbidez, indicando posible crecimiento microbiano (figura 3A), lo cual se confirmó al realizar el sembrado en placas de agar Cromocult y *Pseudomonas*, donde se observaron colonias productoras de un pigmento pardo en el agar Cromocult y colonias transparentes a blanquecinas en el agar *Pseudomonas* (figura 3B).

Al ser re-aisladas en caldo Fluorocult las cepas provenientes del agar Cromocult mostraron la presencia de un pigmento pardo y las procedentes del agar *Pseudomonas* la producción de un pigmento verdoso que mostró fluorescencia a la luz ultravioleta. Estos cambios permitieron identificar las cepas degradadoras como *Pseudomonas aeruginosa* (agar Cromocult) y *Pseudomonas fluorescens* (agar *Pseudomonas*).

Finalmente, hay que destacar que en las fotografías de las placas de Petri se observó el desarrollo de colonias tanto en los estriados tomados del medio mineral con hidrogeles y membrana, como en el control sin membrana. Se esperaba que en los cultivos controles (sin inóculo bacteriano proveniente del afluente) no debían desarrollarse microorganismos, por lo que se infiere que hubo contaminación por bacterias del ambiente. A pesar de que todo fue cuidadosamente esterilizado (medio mineral, recipientes e instrumentación utilizados), pero es posible que haya que optimizar el cierre de los recipientes.

Figura 3

(A) Turbidez del medio de cultivo donde se encuentran los hidrogeles a) poli(AAm)/PHB b) poli(AAm)/PHBV. (B) Crecimiento de microorganismos en placas de Agar. (a) Agar Cromocult con cultivo poli(AAm)/PHB (b) Agar Cromocult con cultivo poli(AAm)/PHBV. c) Agar Pseudomona con cultivo Poli(AAm)/PHB d) Agar Pseudomona con cultivo poli(AAm)/PHBV

Otro aspecto que será revisado en futuros trabajos es la síntesis y la purificación de los hidrogeles (figura 4), ya que en aplicaciones biomédicas de estos materiales Moreno et al. (2016), han reportado que a pesar del secado y esterilización de los hidrogeles, se ha encontrado en ellos, trazas de agentes pirogénicos que quedan ocluidos, y que pueden derivar en infecciones en pacientes cuando se aplican como implantes, sugiriendo

como solución sintetizar y purificar con solventes como el etanol. Desde hace más de tres décadas se ha reportado que a pesar de rigurosas medidas de esterilización de los hidrogeles, los agentes infecciosos pueden permanecer insertados en la matriz polimérica (Pavlyk, 1998).

Figura 4

Hidrogeles durante el proceso de purificación en agua destilada, sintetizados a partir de: (a) poliacrilamida. (b) poli (AAm)/ PHBV. (c) poli (AAm)/ PHB

Conclusiones

En este trabajo se lograron sintetizar hidrogeles a partir de poliacrilamida e interpenetrados con los biopoliésteres PHB y PHBV, y se evaluó de manera efectiva su capacidad de absorción.

También se lograron aislar e identificar cepas bacterianas con potencial para la degradación de estos hidrogeles

Estos resultados son importantes, ya que constituyen un aporte al campo de nuevos materiales para liberación controlada o apósitos y capaces de biodegradarse.

No obstante, se continuará optimizando la metodología reportada en este trabajo, ya que en los cultivos controles (sin inóculo bacteriano proveniente del afluente), también se desarrollaron microorganismos, de lo cual se infiere que a pesar de que todo fue cuidadosamente esterilizado, hay que mejorar aspectos como el sellado de los sistemas inoculados. Se avanzará también en el proceso de síntesis y purificación de los

hidrogeles, para garantizar la ausencia de microorganismos derivados de los solventes y líquidos utilizados, que pueden haber permanecido ocluidos a pesar de la esterilización a que fueron sometidos.

Referencias bibliográficas

- Alcívar, C. (2020). Biomateriales agropecuarios como sustitutos de los plásticos. Ecuador es calidad: *Revista Científica Ecuatoriana*, 7(1), 1-4. <https://revistaecuadrescoalidad.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadrescoalidad/index.php/revista/article/view/97>
- Benítez, J., Lárez, C. y Rojas de Gascue B. (2015). Cinética de absorción y transporte del agua en hidrogeles sintetizados a partir de acrilamida y anhídrido maleico. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* 35 (2): 242-253. <http://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/view/662>
- Benítez, J., Lárez C., Urbina, C. y Rojas de Gascue B. (2018) Efectos de la isomería configuracional sobre el hinchamiento de hidrogeles basados en acrilamida/anhídrido maleico. *Avances en Química*, 13(3), 61-67. <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/avancesenquimica/article/view/13979>
- Catalán N, Costa, M., Selaive, S. y Contreras, C. (2017). Aislamiento de microorganismos hidrolíticos de polisacáridos algales. *Agro Sur*, 45(3), 21-28. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2017.v45n3-04>
- Cruz-Cardona, Y., Cadena-Chamorro, E. y Arango-Tobón, J. (2019). Procesamiento de la Cascarilla de Cebada Cervecera por Vía Enzimática para la Obtención de Azúcares Fermentables. *Información Tecnológica*, 30(4), 41-50. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000400041>
- González, N., Contreras, J., López, F., El-Halah, A., Torres, C., Prin, J., Benítez, J. y Rojas de Gascue, B. (2013). Estudio de la síntesis y caracterización de hidrogeles semi-IPN obtenidos a partir de poliacrilamida y el biopolímero poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato). *Interciencia.* 38(6), 430-

436. <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2017/12/430-c-GASCUE-7.pdf>

González, N., El-Halah, A., Contreras, J. y Rojas de Gascue, B. (2018). Estudio de la capacidad de absorción en hidrogeles semi-interpenetrados de poliacrilamida/poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato). *Rev. Colomb. Quim.*, 47 (3), 5-12. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v47n3.69280>

Guzmán, C., Hurtado, A., Carreño, C. y Casos, I. (2017). Producción de polihidroxialcanoatos por bacterias halófilas nativas utilizando almidón de cáscaras de *Solanum tuberosum* L. *Scientia Agropecuaria* 8(2):109 – 118. <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v8n2/a03v8n2.pdf>

Lemos, A. y Mina, A. (2015). Polihidroxialcanoatos (PHA) producidos por bacterias y su posible aplicación a nivel industrial. *Informador Técnico (Colombia)* 79(1) , 93-101. https://www.researchgate.net/publication/316003800_Polihidroxialcanoatos_PHA%27s_producidos_por_bacterias_y_su_posible_aplicacion_a_nivel_industrial

Lenz, R. y Marchessault, R. (2005). Bacterial polyesters: Biosynthesis, Biodegradable plastics and Biotechnology. *Biomacromolecules*, 6(1): 1-8. <https://doi.org/10.1021/bm049700c>

López P. (2012). Clarificando las diferencias entre Biodegradación, Biosaneamiento, Biocatálisis y Biodeterioración. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* S5: 2-3. <http://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/view/390>

Medina, J., Rochea, Y., Maldonado, O., Hernández, J. y Zapata, C. (2018). Hydrolytic degradation and biodegradation of binary mixes of polylactic acid (PLA) with plastic residues. *Revista Ingeniería UC*, 25 (2), 248 – 258. <http://bdigital2.ula.ve:8080/xmlui/bitstream/handle/654321/3959/art12-1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Moreno, R., Penott-Chang, E., Rojas de Gascue, B. y Müller, A. (2017). The effect of the solvent employed in the synthesis of hydrogels of poly (acrylamide-co-methyl methacrylate) on their structure, properties and possible biomedical applications. *European Polymer Journal*, 88: 148–160. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.01.005>
- Pavlyk, BI. (1998) *Biocompatible Hydrogel, United States Patent 5798096A*. <https://patents.google.com/patent/US5798096A/en>
- Ramírez, A., Benítez, JL., Rojas de Astudillo, L. y Rojas de Gascue, B. (2016) Materiales polímeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante FTIR, DSC, MEB y MET. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* 36 (2): 108-130. <http://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/view/736>
- Rojas de Gascue, B., Prin, JL., Lorenzo, R., Villarroel, H., Bracho, N., Rojas, L., Duben A., López, P., Bolívar, G. y Ramírez, M. (2011). Estudio de diferentes vías para modificar las propiedades del polímero biodegradable PHB y aumentar su campo de aplicación. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* S3: 42-43 <http://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/view/219>
- Rojas de Gascue, B., Rodríguez, R., Villarroel, H., Rojas, L., Prin, J., Contreras, D., Ramírez, A., González, N. y Contreras, J. (2012). Estudios de absorción de metales en hidrogeles obtenidos a partir de poliácridamida y biopolímeros (Quitosano y Polihidroxialcanoatos). *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* S5: 16-19 <http://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/view/399>
- Rojas, E., Hoyos, JL. y Mosquera, S. (2018). Producción de Polihidroxialcanoatos (PHAs) a partir de *Ralstonia eutropha* en un medio con harina de yuca como fuente de carbono. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(1), 19-26 [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)19-26](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)19-26)
- Schott, H. (1992). Kinetics of swelling of polymers and their gels. *Journal Pharmacy Science*. 81: 467-470. <https://doi.org/10.1002/jps.2600810516>

- Shah, A., Hasan, F., Akhter, JI., Hameed, A. y Ahmed, S. (2008). Degradation of polyurethane by novel bacterial consortium isolated from soil. *Annals of Microbiology*, 58 (3): 381-386. https://www.academia.edu/8222137/Degradation_of_polyurethane_by_novel_bacterial_consortium_isolated_from_soil
- Villarroel, H., Prin, J., Ramírez, M., Bolívar, G., Rojas, L., Katime, I., Laredo, E. y Rojas de Gascue, B. (2010) Síntesis, Absorción de sales, Propiedades térmicas y Morfología en hidrogeles de tipo semi-IPN obtenidos a partir de poli(acrilamida)/Poli(3-Hidroxibutirato). *Rev.Iberoam.Polím*, 11(7), 625-631 <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/07/2010-villarroel.pdf>
- Zerpa, M., Ramírez, A., Tenía, R., Prin, JL., Rojas, L., Astudillo, H. y Rojas de Gáscue, B. (2017). Evaluación de la afinidad para la remoción de iones Mg^{2+} y Ni^{2+} en hidrogeles copolímeros de poli(acrilamida-co-ácidos orgánicos). *Rev. LatinAm. Metal. Mat.*, S7, 15-19. <http://www.rlmm.org/ojs/index.php/rlmm/article/view/879>